ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 50, 5, 2016

УДК 619:576.89

КСЕНОМОНИТОРИНГ ДИРОФИЛЯРИОЗА НА ЮГЕ И СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

© Е. Ю. Криворотова,* С. А. Нагорный

ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора
Газетный переулок, 119, г. Ростов-на-Дону, 344000
* E-mail: krivorotova_elena@mail.ru

Поступила 26.05.2016

В период с 2009 по 2013 г. проведен ксеномониторинг дирофиляриоза у переносчиков, собранных на юге и северо-западе Российской Федерации. Исследовано 6070 особей кровососущих комаров, личинки дирофилярий обнаружены у 85 насекомых (1.4 ± 0.2 %). Наиболее высокая зараженность комаров микрофиляриями дирофилярий выявлена в Ростовской обл. — 1.8 ± 0.2 % (66/3590); в Астраханской обл. личинки выявлены у 0.9 ± 0.4 % комаров (4/470), Краснодарском крае — 0.8 ± 0.2 % (11/1382), Новгородской обл. — 0.7 ± 0.4 % (3/438), Республике Адыгея — 0.5 ± 0.5 % (1/190). Зараженность личинками *Dirofilaria* spp. комаров рода *Aedes* (Meigen, 1818) составила 2.3 ± 0.3 % (45/1936), рода *Culex* (Linnaeus, 1758) — 1.9 ± 0.4 % (25/1334), рода *Anopheles* (Meigen, 1818) — 0.6 ± 0.1 % (15/2713), у рода *Culiseta* (Felt, 1904) микрофилярии не обнаружены (0/87).

Ключевые слова: ксеномониторинг, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*.

Дирофилярии — единственные гельминты с трансмиссивным путем передачи, вызывающие заболевания человека в странах умеренного климата. Промежуточными хозяевами дирофилярий являются двукрылые кровососущие комары сем. Culicidae (Diptera) из родов *Anopheles* (Meigen, 1818), *Aedimorphus* (Theobald, 1903), *Armigeres* (Theobald, 1901), *Ochlerotatus* (Lynch Arribalzaga, 1891), *Aedes* (Meigen, 1818), *Culex* (Linnaeus, 1758), *Coquillettidia* (Dyar, 1905*)* и *Mansonia* (Theobald, 1901) (Becker et al., 2010). Для того чтобы комар мог выступать в качестве промежуточного хозяина дирофилярий, он должен обеспечивать развитие паразита до инвазионной стадии (L3). Считается, что около 70 видов комаров способны поддерживать развитие личинок *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) до инвазионной стадии (Ludlam et al., 1970; Otto, Jachowski, 1981), в качестве промежуточных хозяев *Dirofilaria (Nochtiella) repens* (Railliet et Henry, 1911) изучено 20 видов комаров (Anderson, 2000).

Температура окружающей среды, влажность, наличие естественных врагов и паразитов, свободный доступ к источникам пищи служат факторами, влияющими на размер популяций комаров. Высокая смертность переносчиков дирофилярий между двумя последовательными гонотрофическими циклами приводит к сокращению численности популяции указанных гельминтов естественным путем. Урбанизация, создание мест, благоприятных для выплода комаров, загрязнение воды органическими веществами и др. способствуют увеличению численности переносчиков (Chandra, 2008). Большая численность комаров является одним из наиболее значимых факторов в эпидемиологии дирофиляриоза. Результаты исследований, проводимых в разные годы, показывают, что, несмотря на проведение химиопрофилактики дирофиляриоза у собак в эндемичных районах Италии, количество животных с микрофиляриемией в сельской местности не уменьшилось (Capelli et al., 2013).

В Российской Федерации ограниченное число работ посвящено изучению зараженности комаров дирофиляриями. Инвазированность комаров дирофиляриями, собранных в различных районах Средней полосы, у видов рода *Aedes* составляла 2.6 %, *Culex* — 3.6 %, *Anopheles* — 3.7 % (Ракова, 2013). В центральном районе Нечерноземной зоны РФ показатели ЭИ комаров личинками дирофилярий колебались от 0.01 до 0.08 % у разных видов переносчиков (Петров, 2011), в Республике Калмыкия от 2.0 до 17.1 % (Архипов, Архипова, 2004), в Волгоградской обл. от 0.01 до 0.09 % (Колесников, 2008). Зараженность комаров микрофиляриями в Ростовской обл. в 2000—2007 гг. составляла 9.7 % (Бескровная, 2009). В Астраханской обл. зараженность комаров микрофиляриями была 5.9 % (Аракельян, 2008).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследовано 6070 самок комаров 4 родов: *Aedes* (1936 экз.), *Culex* (1334 экз.), *Anopheles* (2713 экз.) и *Culiseta* (Felt, 1904) (87 экз.). Насекомые были отловлены в Ростовской обл. — 3590 особей, Краснодарском крае — 1382, Новгородской обл. — 438, Астраханской области — 470, Республике Адыгея — 190.

Подготовку комаров к лабораторному исследованию на зараженность микрофиляриями проводили согласно МУ 3.1. 3012-12 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней». Насекомых обездвиживали эфиром. Перед вскрытием самкам отрезали крылья и ноги. На предметном стекле, придерживая препаровальной иглой брюшко, копьевидной иглой рассекали тело комара посередине грудного отдела. Для извлечения мальпигиевых желез и кишечника надрывали хитиновый покров брюшка между 2 и 3 сегментами, считая от заднего конца. Затем одну иглу втыкали в грудь насекомого, другую в конец брюшка и раздвигали их в разные стороны. Для препарирования грудного отдела у комара отсекали голову, надавливали иглой плашмя на грудь насекомого и проводили ею к переднему концу. Препараты, приготовленные из самок с кровью, после вскрытия обрабатывали несколькими каплями 3%-ного раствора уксусной кислоты. После высыхания на воздухе все препараты фиксировали этиловым спиртом в течение 10—15 мин, окрашивали краской Романовского—Гимза в течение 20—30 мин и микроскопировали при увеличении объектива ×90—100.

Личинок, найденных в препарате комаров, в зависимости от их локализации определяли до рода (*Dirofilaria*) двумя диагностическими подходами. Личинок, найденных в мальпигиевых сосудах, априори относили к *Dirofilaria* spp., так как только виды этого рода филярий развиваются в мальпигиевых железах комаров (Sauerman, Nayar, 1983). Инвазионных личинок, найденных в слюнных железах, идентифицировали по форме хвостового конца, длине тела и положению ануса (по: Сонин, 1966). Видовая идентификация микрофилярий не проводилась, так как при микроскопии личинки рода *Dirofilaria*, найденные в комарах, невозможно идентифицировать до вида (Cancrini, Gabrielli, 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 6070 особей кровососущих комаров личинки дирофилярий обнаружены у 85 насекомых (1.4 ± 0.2 %). Наиболее часто личинки дирофилярий были выявлены у комаров родов *Aedes* (2.3 ± 0.3 %) и *Culex* (1.9 ± 0.4 %), зараженность комаров рода *Anopheles* микрофиляриями ниже — 0.6 ± 0.1 %. У самок комаров рода *Culiseta* микрофилярии не обнаружены. По нашему мнению, различие в показателях зараженности комаров дирофиляриями разных родов связано с наличием/отсутствием механизмов защиты против внедрившихся паразитов (цибариальная арматура, хитиновые «зубцы» в передней кишке, меланизация и инкапсуляция личинок, антигемостатический фактор в слюне, быстрая коагуляция поглощенной крови в кишечнике и др.), размером популяции, близостью и удаленностью мест сбора насекомых к очагам дирофиляриоза и другими факторами.

Результаты исследований комаров с различных территорий России представлены в табл. 1. Инвазированность комаров в Ростовской обл. в 2 и более раз выше по сравнению с остальными территориями. Наиболее низкая зараженность комаров дирофиляриями установлена в Республике Адыгея — 0.5 ± 0.5 %.

Уровень зараженности комаров дирофиляриями в Ростовской и Астраханской областях в проведенных ранее исследованиях (Аракельян, 2008; Бескровная, 2009) был выше, чем выявленный нами, в связи с тем, что изменены места сбора насекомых — точки отлова не были приурочены к очагам дирофиляриоза (питомники собак, места содержания служебных животных, зоопарковая зона), где зараженность и окончательных, и промежуточных хозяев высокая. В Ростовской обл. экстенсивность инвазии собак дирофиляриозом снизилась с 25.6 % в 2000—2007 гг. (Бескровная, 2009) до 10.7 % в 2009—2013 гг. (Криворотова, 2015), что также отразилось на показателе зараженности комаров.

В 2010—2012 гг. комары для исследования собраны в 15 территориальных единицах Ростовской обл. (табл. 2). Наиболее высокий уровень зараженности комаров дирофиляриями выявлен в Пролетарском р-не (4.6 ± 1.2 %) и в г. Шахты (3.9 ± 1.7 %), наименьший в Зерноградском и Сальском районах Ростовской обл. — 0.6 ± 0.6 и 0.4 ± 0.4 % соответст-

Таблица 1

Зараженность комаров дирофиляриями на некоторых территориях РФ

Table 1. Infestation of mosquitoes with larvae of *Dirofilaria* spp. in some areas of the Russian Federation

Род комаров	Количество исследованных комаров	Из них положительных	
		абс.	% ± m
	Астраханская обл.		
Anopheles	470	4	0.9 ± 0.4
	Краснодарский край		
Aedes	685	7	1.0 ± 0.4
Culex	582	4	0.7 ± 0.3
Anopheles	115	0	0.0
Всего	1382	11	0.8 ± 0.2
	Республика Адыгея		
Aedes	2	0	0.0
Culex	16	0	0.0
Anopheles	172	1	0.6 ± 0.6
Всего	190	1	0.5 ± 0.5
	Ростовская обл.		
Aedes	1013	37	3.6 ± 0.6
Culex	736	21	2.9 ± 0.6
Anopheles	1841	8	0.4 ± 0.1
Всего	3590	63	1.8 ± 0.2
	Новгородская обл.		
Aedes	236	1	0.4 ± 0.4
Anopheles	115	2	1.7 ± 1.2
Culiseta	87	0	0.0
Всего	438	3	0.7 ± 0.4

Таблица 2

Зараженность комаров личинками дирофилярий в Ростовской обл.

Table 2. Infestation of mosquitoes with larvae of *Dirofilaria* spp. in Rostov Province

Род комаров	Количество исследованных комаров	Из них положительных	
		абс.	% ± m
	Азовский р-н		
Aedes	43	1	2.3 ± 2.3
Culex	18	1	5.6 ± 5.4
Anopheles	185	1	0.5 ± 0.5
Всего	246	3	1.0 ± 0.6

Таблица 2 (*продолжение*)

Род комаров	Количество исследованных комаров	Из них положительных	
		абс.	% ± m
	Аксайский р-н		
Aedes	3	1	33.3 ± 27.2
Culex	160	3	1.9 ± 1.1
Anopheles	158	1	0.6 ± 0.6
Всего	321	5	1.6 ± 0.7
	Белокалитвинский р-н		
Culex	127	4	3.1 ± 1.5
Anopheles	32	0	0.0
Всего	159	4	2.5 ± 1.2
	Волгодонской р-н		
Aedes	25	2	8.0 ± 5.4
Culex	118	4	3.4 ± 1.6
Anopheles	138	1	0.7 ± 0.7
Всего	281	7	2.5 ± 0.9
	Зерноградский р-н		
Aedes	16	0	0.0
Anopheles	140	1	0.7 ± 0.7
Всего	156	1	0.6 ± 0.6
	Красносулинский р-н		
Aedes	226	9	4.0 ± 1.3
Culex	125	1	0.8 ± 0.8
Anopheles	511	2	0.4 ± 0.3
Всего	862	12	1.4 ± 0.4
	Октябрьский р-н		
Culex	40	2	5.0 ± 3.4
Anopheles	189	1	0.5 ± 0.5
Всего	229	3	1.3 ± 0.7
	Пролетарский р-н		
Aedes	351	16	4.6 ± 1.1
	Сальский р-н		
Anopheles	250	1	0.4 ± 0.4
	Усть-Донецкий р-н		
Aedes	3	0	0.0
Anopheles	40	0	0.0
Всего	43	0	0.0
	Цимлянский р-н		
Anopheles	17	0	0.0

Таблица 2 (*продолжение*)

Род комаров	Количество исследованных комаров	Из них положительных	
		абс.	% ± m
Г. Таганрог			
Aedes	136	4	2.9 ± 1.4
Culex	6	1	16.7 ± 15.2
Anopheles	164	0	0.0
Всего	306	5	1.6 ± 0.5
Г. Новошахтинск			
Culex	13	0	0.0
Anopheles	17	0	0.0
Всего	30	0	0.0
Г. Каменск			
Aedes	210	4	1.9 ± 0.9
Г. Шахты			
Culex	129	5	3.9 ± 0.7

венно. В Усть-Донецком и Цимлянском районах, в г. Новошахтинске дирофилярии в комарах не выявлены, вероятно, это связано с малой выборкой исследованных комаров, поэтому учитывать данные отрицательные результаты для определения зараженности насекомых филяриями в данном районе нецелесообразно, но они дополняют общую выборку по Ростовской обл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дирофиляриоз — актуальная проблема медицинской и ветеринарной паразитологии. Комары, зараженные дирофиляриями, найдены нами на всех исследованных территориях Российской Федерации. Уровень зараженности насекомых гельминтами различался: наиболее высокий показатель зараженности комаров личинками дирофилярий выявлен в Ростовской обл. (1.8 ± 0.2 %), наименьший — в Республике Адыгея (0.5 ± 0.5 %). Различия в уровне инвазированности комаров дирофиляриями обусловлены разным таксономическим составом исследованных насекомых, показателями экстенсивности инвазии, дирофиляриозом окончательных хозяев на данной территории, близостью мест сбора проб к очагам дирофиляриоза. При этом зараженные дирофиляриями комары выявлены на всех обследованых территориях, что свидетельствует об активности очагов дирофиляриоза. Это в свою очередь подтверждает, что в Астраханской, Ростовской, Новгородской областях, Краснодарском крае и Республике Адыгея имеются предпосылки для заражения дирофиляриозом людей и животных.

Классическое лабораторное исследование комаров на наличие микрофилярий основано на микроскопии вскрытых окрашенных самок. Наши исследования подтверждают, что обнаружение личинок филярий в комарах методом микроскопии вскрытых самок занимает много времени и трудоемко. В последние годы для ксеномониторинга дирофиляриоза применяют молекулярно-биологические методы исследования. Использование ПЦР может привести к быстрому высокопроизводительному скринингу филяриатозов у комаров-переносчиков. Использование современных методов позволит проводить масштабные эпидемиологические и эпизоотологические исследования дирофиляриоза.

Система эпидемиологического надзора должна быть реализована местными органами Роспотребнадзора. Непрерывный ксеномониторинг уровня зараженности комаров дирофиляриями имеет важное значение для оценки успеха проведенных профилактических и противоэпидемических мероприятий в эндемичных районах. На территории Ростовской обл. благодаря активной работе ФБУН Ростовского НИИ микробиологии и паразитологии, Государственной ветеринарной службы, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» и ТУ Роспотребнадзора оптимизированы профилактические и противоэпидемические мероприятия в отношении дирофиляриоза. В связи с этим за 15 лет эпизоотологическая ситуация по дирофиляриозу на данной территории улучшилась.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность руководителям, паразитологам и энтомологам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» и ТУ Роспотребнадзора в Ростовской, Астраханской и Новгородской областях, Краснодарском крае, Республиках Адыгея, Карачаево-Черкесия и Калмыкия за помощь в сборе биологического материала и за помощь в организации работы во время экспедиционных выездов.

Список литературы

Аракельян Р. С. 2007. Эпидемиолого-эпизоотологические особенности дирофиляриоза на территории Астраханской области. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 25 с.

Архипов И. А., Архипова Д. Р. 2004. Дирофиляриоз. М. 194 с.

Бескровная Ю. Г. 2009. Дирофиляриоз на юге России (распространение и диагностика). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 25 с.

Колесников П. В. 2008. Особенности циркуляции *D. repens* и *D. immitis* на примере Волгоградской области. Матер. XII Регионал. конф. молодых исследователей Волгоградской обл. Волгоград. 36—37.

Криворотова Е. Ю. 2015. Биологические аспекты дирофиляриоза на некоторых территориях Российской Федерации. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов-на-Дону. 24 с.

МУ 3.1.3012—12 Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней: издание официальное: утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом РФ 4.04.2012. М. 2012. 57 с.

Петров Ю. Ф. 2011. Экология кровососущих комаров и мошек — переносчиков возбудителей паразитарных болезней животных в Центральном районе нечерноземной зоны РФ. Российский паразитологический журнал. 4 : 52—54.

Ракова В. М. 2013. Молекулярно-биологическая диагностика дирофиляриоза в организмах дефинитивного хозяина и переносчиков. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 24 с.

Сонин М. Д. 1966. Филяриаты животных и человека и вызываемые ими заболевания. Ч. 1. Апроктоидеи. М.: Наука. 360 с

Anderson R. C. 2000. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. Wallingford, CAB Publishing. 672 p.

Becker N., Petric D., Zgomba M., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., Kaiser A. 2010. Mosquitoes and their control. Heidelberg, Dordrecht, New York, Springer. 577 p.

Cancrini G., Gabrielli S. 2007. Vectors of Dirofilaria nematodes: biology, behaviour and host. Napoli, Mappe Parassitologiche. 8 : 47—58.

Capelli G., Frangipane di Regalbono A., Simonato G., Cassini R., Cazzin S., Cancrini G., Otranto D., Pietrobelli M. 2013. Risk of canine and human exposure to Dirofilaria immitis infected mosquitoes in endemic areas of Italy. Parasit Vectors. 6 : 60.

Chandra G. 2008. Nature limits filarial transmission. Parasit Vectors. 1 : 13.

Ludlam K. W., Jachowski L. A. Jr., Otto G. F. 1970. Potential vectors of Dirofilaria immitis. Journal of the American Veterinary Medical Association. 157 (1) : 1354—1359.

Otto G. F., Jachowski L. A. 1981. Mosquitoes and canine heartworm disease. In: Morgan H. S., Otto G. F., Jackson R. F., Jachowski L. A., Courtney G. P (eds). Proceedings of the Heartworm Symposium ‘80. Edwardsville, Kansas, Veterinary Medicine Publishing Co. 17—32.

Sauerman D. M., Nayar K. J. 1983. A survey for natural potential vectors of Dirofilaria immitis in Vero Beach, Florida Mosquitoes News. 43 (2) : 222—225.

XENOMONITORING OF THE DIROFILARIASIS IN THE SOUTH AND NORTH-WEST OF THE RUSSIAN FEDERATION

E. Yu. Krivorotova, S. A. Nagorny

Key words: xenomonitoring, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*.

SUMMARY

Xenomonitoring (detection of filarial larvae in mosquitoes) of vectors of dirofilariasis was performed in 2009—2013 in vectors collected in southern and northwestern regions of the Russian Federation. In Rostov, Astrakhan, Krasnodar, and Novgorod Provinces and in the Republic of Adygea the degree of infestation of mosquito larvae with Dirofilaria constituted 1.8 ± 0.2 % (66/3590), 0.9 ± 0.4 % (4/470), 0.8 ± 0.2 % (11/1382), 0.7 ± 0.4 % (3/438), and 0.5 ± 0.5 % (1/190), respectively. Total degree of infestation of mosquitoes with larvae of *Dirofilaria* spp. constituted 2.3 ± 0.3 % (45/1936), 1.9 ± 0.4 % (25/1334), and 0.6 ± 0.1 % (15/2713) in *Aedes* (Meigen, 1818), *Culex* (Linnaeus, 1758), and *Anopheles* (Meigen, 1818). No microfilariae were found in *Culiseta* (Felt, 1904) (0/87).